



**DISEÑO Y SÍNTESIS DE
COMPUESTOS DERIVADOS DE 2-
FENILPIPERAZINA. NUEVAS
UREAS CON POTENCIAL ACCIÓN
ANTIADENOVIRUS.**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA Y
FARMACÉUTICA**

**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

**Rocío Martín Moreno
Curso 2015/2016**



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

GRADO EN FARMACIA

TRABAJO DE FIN DE GRADO

DISEÑO Y SÍNTESIS DE COMPUESTOS DERIVADOS DE 2-FENILPIPERAZINA. NUEVAS UREAS CON POTENCIAL ACCIÓN ANTIADENOVIRUS.

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA Y FARMACÉUTICA

TUTORES: Fernando Iglesias Guerra y Margarita Vega Holm

TIPOLOGÍA DEL PROYECTO: Experimental

Rocío Martín Moreno

Sevilla, diecisiete de Junio de dos mil dieciséis.

RESUMEN

Los adenovirus (Adv) comprenden un gran grupo de complejos virus no envueltos, con un diámetro de 80 nm, simetría icosaédrica y ADN bicatenario. Fueron aislados por primera vez en 1953 como patógenos respiratorios.

Se conocen más de 50 serotipos descritos, dentro de 7 especies diferentes (A-G).

Causan infecciones mayoritariamente en tracto respiratorio, tracto gastrointestinal, infecciones oculares como conjuntivitis, cistitis hemorrágica; las cuales son generalmente resueltas por nuestro sistema inmune celular en individuos inmunocompetentes. No obstante, las infecciones en inmunocomprometidos pueden causar enfermedades graves, incluso mortales.

La situación actual de la falta tratamiento específico contra Adv, siendo conscientes de las consecuencias que trae la infección en pacientes inmunocomprometidos, hace que la búsqueda de nuevas moléculas activas sea un importante objetivo en grupos de investigación. En el presente trabajo, se ha partido de un compuesto derivado de la 2-fenilpiperazina, con probada actividad anti-Adv escogiéndolo como prototipo para proponer cambios en la estructura y diseñar nuevos compuestos análogos.

Se ha llevado la síntesis de estos compuestos mediante reacciones sencillas y que transcurren con buen rendimiento químico. Se han sintetizado 3 compuestos empleados como precursores (monoamidas en el nitrógeno 4). La reacción de estos precursores con isocianatos permite introducir la función urea (en el nitrógeno 1). Se han sintetizado de esta forma 8 productos finales análogos al prototipo. Los ensayos biológicos serán los que confirmen si se ha mejorado el perfil de actividad y toxicidad en los nuevos compuestos respecto al prototipo, con el fin de convertirse en fármacos para tratar infecciones por Adv.

Palabras clave: Adenovirus, 2-fenilpiperazina, compuestos análogos, urea.

ÍNDICE

1. Introducción.....	4
2. Antecedentes.....	11
3. Objetivos.....	16
4. Metodología.....	17
4.1. Métodos generales.....	17
4.2. Procedimiento general para la obtención de monoamidas derivadas de 2- fenilpiperazina.....	17
4.3. Procedimiento general para la obtención de derivados de urea.....	19
5. Resultados y discusión.....	24
6. Conclusiones.....	30
7. Bibliografía.....	31
Anexos.....	36

1. INTRODUCCIÓN

Los adenovirus (Adv) comprenden un gran grupo de complejos virus no envueltos, con un diámetro de 80 nm y una simetría icosaédrica. La cápside está compuesta por 3 proteínas principales, bases hexonas, bases pentonas y fibras nudosas proyectadas sobre estas bases pentonas, localizadas en sus 12 vértices, además de varias proteínas menores. El genoma viral, es un ADN bicatenario (dsADN) de aproximadamente 36 a 38 kbp de longitud (Shors, 2009), que codifica aproximadamente 35 genes (Wold y Toth, 2015), sin embargo, sólo 12 proteínas codificadas por esos genes forman parte de la estructura viral. Este genoma viral se encuentra dentro del núcleo condensado, en asociación con una serie de proteínas (V, VII, μ) y el final 5' de la cadena de ADN está unido a la proteína terminal (Figura 1) (Smith y cols., 2010).

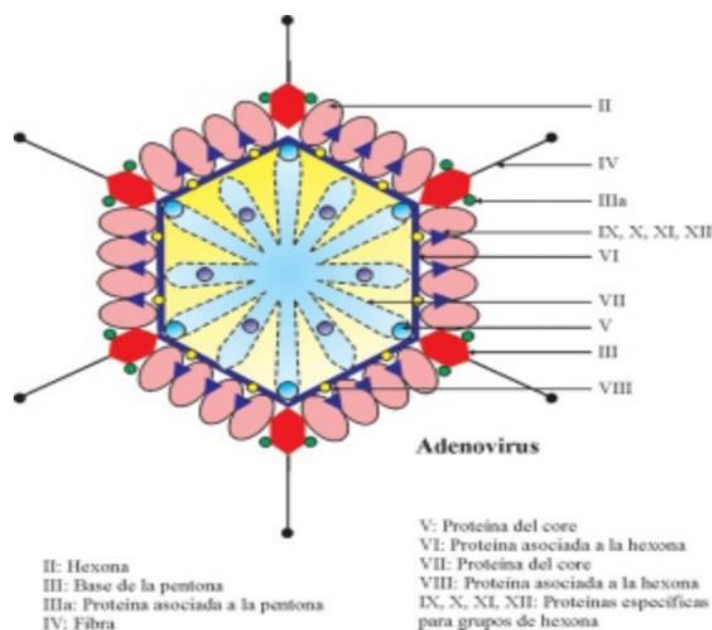


Figura 1. Estructura y composición de Adenovirus. Fuente: Llop, 2001.

Fueron aislados por primera vez en 1953 como patógenos respiratorios (Hilleman y Werner, 1954; Rowe y cols., 1953).

Se trata de un patógeno con más de 50 serotipos descritos (Gertjan y cols., 2015), dentro de 7 especies diferentes (A-G) (Robinson y cols., 2013), de ahí que afecte a gran variedad de órganos y sistemas (Andersson y cols., 2010).

La transmisión de Adv de un paciente infectado a un paciente sano es típicamente por secreciones respiratorias, por el contacto entre personas y a través de fómites, ya que es un virus que se mantiene estable en el ambiente. Los síntomas gastrointestinales de Adv se dan cuando la transmisión del virus ha sido vía fecal-oral (Munksgaard, 2004).

Son capaces de infectar a gran variedad de vertebrados, incluido humanos (McGrath y cols., 2013). Causan infecciones mayoritariamente en tracto respiratorio, tracto GI, infecciones oculares como conjuntivitis (McGrath y cols., 2013), cistitis hemorrágica (Öberg y cols., 2012); Las cuales son generalmente autolimitadas y resueltas por nuestro sistema inmune celular en individuos inmunocompetentes (George y cols., 2011).

El verdadero problema de infección con Adv, es cuando afecta a personas inmunocomprometidas y otros grupos considerados de riesgo como podemos ver en la Tabla 1 (Andersson y cols., 2010).

Tabla 1. Serotipos de adenovirus asociados a sus enfermedades específicas.

Huésped	Enfermedad	Serotipo responsable
Bebés y niños pequeños	Faringitis con fiebre	1-3, 5-7
	Gastroenteritis	40, 41
	Cistitis hemorrágica	11, 21
	Hepatitis	1, 2, 5
	Neumonía	1-3, 7
Niños	Síndrome de Pertussis	5
	Nasofaringitis	1-5, 7, 14, 15
	Gastroenteritis	1, 3, 5, 7, 31-33, 40, 41
	Fiebre farinoconjuntival	3, 7, 14
	Queratoconjuntivitis epidémica*	8, 11, 19, 37
	Cistitis hemorrágica	7, 11, 21, 35
	Miocarditis	7, 21
Reclutas militares	Enfermedad respiratoria aguda	3, 4, 7, 14, 21
	Neumonía	4, 7

Pacientes inmunocomprometidos	Estancia del virus en tracto urinario	4, 11, 34, 35
	Estancia del virus en colon	
	Neumonitis, hepatitis	42-49
SIDA	Gastroenteritis, neumonitis, hepatitis, encefalitis	1, 2, 5, 11, 26, 28, 29, 30, 37, 43-47
Trasplante de médula ósea Trasplante de células madres	Gastroenteritis, neumonitis, hepatitis, cistitis hemorrágica, encefalitis, enfermedad diseminada	1-3, 5, 7, 11, 31
Trasplante de hígado	Gastroenteritis, hepatitis, neumonitis, enfermedad diseminada	1, 2, 5, 7, 31
Trasplante de riñón	Cistitis hemorrágica, neumonitis, enfermedad gastrointestinal	11, 34, 35
Trasplante de pulmón	Neumonitis, enfermedad diseminada	2, 5†
* Queratoconjuntivitis epidémica puede darse en cualquier grupo de edad		
† serotipo no recogido en la literatura		

Fuente: Munksgaard, 2004

La infección por Adv en estos grupos de riesgo, se considera un gran problema de salud, como nos muestran las estadísticas, ya que, infectan entre el 3–47% de los pacientes pediátricos que han sido trasplantados de células madres hematopoyéticas (TCMH) (Echevarría, 2008; Verdeguer, 2011), lo que es preocupante por la posible diseminación y compromiso multisistémico (Abarca y cols., 2008) y se asocia con un ratio de mortalidad de entre 2-80%. También infectan a pacientes trasplantados de hígado o corazón en un 10% aproximadamente y en torno al 22% de pacientes con trasplante de pulmón (Humar, 2005; Ison y Green, 2009). Se asocian principalmente las especies *A*, *B* y *C*, con estas infecciones en inmunocomprometidos.

Serotipos de la especie *B* se han asociado a afecciones renales y serotipos de la clase *C* se han asociado a hepatitis. Es común la infección por diferentes serotipos (Öberg y cols., 2012).

Los métodos diagnósticos para confirmar una infección por ADV son el cultivo tradicional que demora entre 3 y 21 días, el cultivo acelerado (shell vial), la identificación directa en secreciones respiratorias u orina por ELISA o IF, la observación de partículas virales características por microscopía electrónica en orina o deposiciones y la serología en individuos inmunocompetentes.

Las técnicas moleculares, de gran desarrollo en los últimos años, han permitido un mejor estudio de los pacientes; detección de genoma viral por PCR en sangre, deposiciones, orina y líquido cefalorraquídeo.

Los criterios considerados diagnósticos de infección por ADV son: detección de virus por microscopía electrónica, cultivo, histología o PCR de tejido estéril (excluyendo tracto gastrointestinal) de un paciente con síntomas compatibles y sin otra causa identificada. Se considera infección definitiva la demostración del virus por histopatología o cultivo de tejidos (Abarca y cols., 2008).

Es importante conocer el ciclo de replicación de Adv en humanos, ya que los inhibidores actuarán en algún punto de este ciclo, para interrumpir la propagación del virus en el organismo.

Pasos claves del ciclo de replicación viral en humanos:

- *Adhesión (adsorción)*. El virus debe ser capaz de adherirse a su huésped y entrar en la célula “diana”. Es un fenómeno electrostático y crucial para el ciclo de replicación viral; es un blanco muy importante de terapias antivirales. Para infectar la célula, las proteínas de adhesión del virus deben ser capaces de unirse a los receptores de superficie celular. Adv une sus fibras nudosas proyectadas a su receptor específico de la superficie celular (Waye y Sing, 2010).
- *Penetración (ingreso)*. Una vez adherido el virus al receptor celular, éste debe atravesar la membrana lipídica (o en algunos casos la membrana nuclear) de la célula huésped. La clatrina es una proteína fundamental en la formación de regiones especializadas de la membrana celular llamadas fositas recubiertas de clatrina. Las fositas “brotan” rápidamente formando vesículas recubiertas de

clatrina, las cuales sirven para el transporte. Inmediatamente después de su formación, la cubierta de clatrina es eliminada y las vesículas que resultan se llaman endosomas. Las vesículas pueden contener virus que penetran en la membrana citoplasmática.

- *Desnudamiento (desensamblaje y localización).* Es la eliminación o degradación de la cápside (desnudamiento), con la liberación consecutiva del genoma en la célula huésped. El genoma es transportado al sitio donde se da la transcripción, que en el caso de Adv es el núcleo y así la replicación puedan comenzar.
- *Tipos de genomas virales y su replicación.* Cuando los virus infectan las células deben ocurrir dos eventos importantes. Por un lado la producción de proteínas estructurales y de enzimas virales (fase temprana) y por otro lado la replicación del genoma viral (fase tardía).

Nos centraremos en virus de dsADN como es el caso de Adv. En la mayoría de los virus de ADN, el genoma se replica en el núcleo y utilizan tanto la maquinaria sintetizadora de ARN y ADN, como la maquinaria procesadora de ARN del huésped. Significa esto que el genoma viral debe atravesar la membrana nuclear para utilizarlas.

Una vez formados, el dsADN viral es empaquetado junto con las proteínas estructurales y enzimas en el citoplasma, lo cual da como resultado la generación de nuevas progenies de virus ensamblados.

- *Ensamblaje.* El ensamblaje es un paso clave en los ciclos de replicación viral. Este estadio comprende el proceso por el cual se forma la partícula viral inmadura.

Los ácidos nucleicos genómicos son empaquetados en las cubiertas preexistentes que se formaron por autoensamblaje de las proteínas virales de la cápside, o se cubren o coensamblan con las proteínas de la cápside. Tras el ensamblaje, el virus obtiene una estructura estable.

- *Maduración.* Éste es el estadio del ciclo viral en el cual el virus se torna infeccioso. Las proteasas virales o celulares participan a menudo en la maduración. Una o más proteínas de la cápside o envoltura pueden sufrir una

escisión proteolítica específica dentro de la partícula, la cual lleva a cambios estructurales sutiles en la partícula viral que pueden aumentar su estabilidad.

Las proteasas codificadas por los virus son blancos atractivos de las terapias antivirales.

- **Liberación.** Los virus recién formados se liberan al ambiente externo después de la lisis y escapan de la célula cuando ésta se desintegra (virus líticos) o mediante brotación a través de la membrana plasmática. Algunos virus brotan a partir de otras membranas y son liberados de la célula por un mecanismo semejante a la secreción (Shors, 2009). Adv forman parte de los virus líticos (Waye y Sing, 2010) (Figura 2).

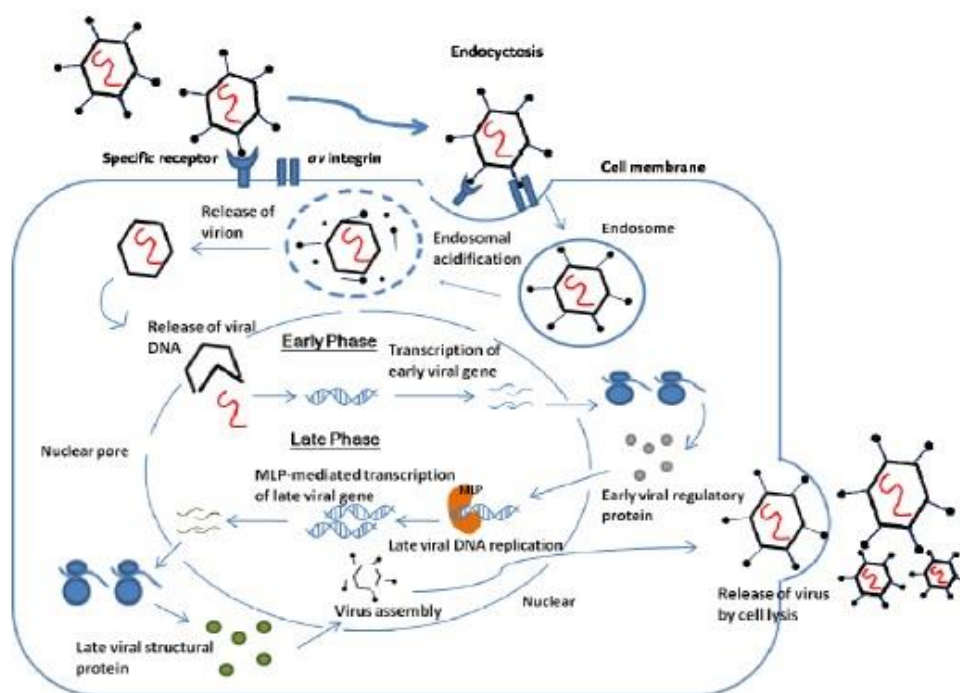


Figura 2. Ciclo de replicación e infección de Adenovirus. Fuente: Waye y Sing, 2010

Para tratar las infecciones por Adv las únicas opciones que tenemos actualmente son el uso compasivo de ciertos compuestos antivirales, aunque éstos no proporcionan los resultados esperados.

2. ANTECEDENTES

Estos virus están siendo muy estudiados en la actualidad, ya que no existe ningún tratamiento aprobado formalmente para las infecciones por Adv hoy día (Andersson y cols., 2010). Además es un reto importante debido a la gran cantidad de cepas muy diferentes que presentan.

Cidofovir (**1**) es actualmente el fármaco de elección (Waye y Sing, 2010), aunque no ha sido aprobado por la FDA para uso específico en infecciones por Adv (Ganapathi y cols., 2016). Es un fosfonato de nucleósido acíclico que muestra actividad anti-viral contra virus de ADN (Hoffman y cols., 2001). Inhibe replicación de Adv, independientemente del serotipo, actuando como una forma monofosfato de nucleótido, una vez fosforilado por quinasas celulares. Las ADN polimerasas virales se unen a estos análogos, resultando en la interferencia con el proceso de replicación viral (Graci y Cameron, 2006).

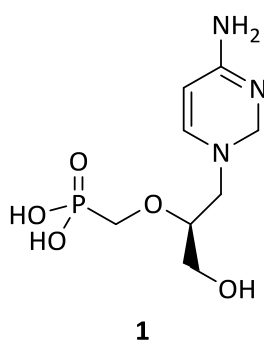


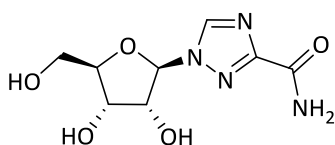
Figura 3. Estructura de cidofovir

Se trata de un antiviral de amplio espectro contra todos los subgrupos de Adv, sin embargo, muestra una baja biodisponibilidad por vía oral y la provoca una toxicidad renal significativa en especial en población adulta (Lindemans y cols., 2010). Para evitarla se recomienda usarlo asociado a probenecid (Álvarez y cols., 2012).

La empresa Gilead Sciences, fabricante de cidofovir, ha solicitado formalmente la autorización de la anulación de comercialización de cidofovir en Europa, debido a problemas con su fabricación y a que existen ya otras opciones terapéuticas, para la

indicación para la cual cidofovir fue aprobado en principio (retinitis por citomegalovirus) (Sánchez-Céspedes, 2016).

Ribavirina (**2**) es el tratamiento más eficaz contra Adv del subgrupo C (Ramírez y cols., 2013), aunque sus concentraciones plasmáticas son al menos 10 veces por debajo de la requerida según su valor de IC50 (Morfin y cols., 2009; Morfin y cols., 2005) por lo que es poco efectiva.

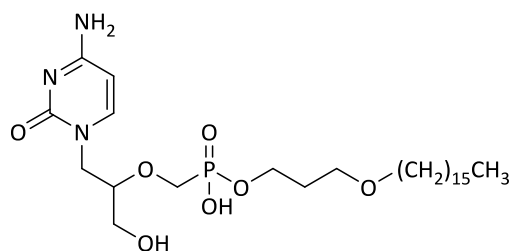


2

Figura 4. Estructura de ribavirina.

Es un análogo de nucleósido pero se duda de si su mecanismo de acción es también ser sustrato de la ADN polimerasa. Otros mecanismos sugeridos incluyen la inhibición directa de la infección por Adv mediante inmunomodulación o agotamiento de reservas de guanosina trifosfato intracelular y la inhibición indirecta por la inducción de la mutación de ARN (Graci y Cameron, 2006).

Brincidofovir (**3**) (CMX001), que es un conjugado lipídico de cidofovir, muestra actividad antiviral contra virus con ADN de doble cadena, incluyendo Adv 3, 5, 7, 8, 31 (toth y cols., 2008). Este medicamento se administra por vía oral y está diseñado para cruzar la pared intestinal y penetrar en la célula diana antes de ser escindido y liberar cidofovir para ejercer su acción, por lo que asegura menor toxicidad en el paciente (Quenelle y cols., 2004).



3

Figura 5. Estructura de Brincidofovir

Se encuentra actualmente en fase III de ensayo clínico (ClinicalTrials.gov no.NCT02087306) (Paolino y cols., 2011, Toth y cols., 2008).

Existen otros muchos estudios de compuestos que muestran su potencial para ser convertidos en fármacos contra Adv.

Dihidroepiandrosterona (DHEA) (4), epiandrosterona (EA) (5) y dos derivados sintéticos presentan actividad anti-Adv similar a cidofovir. En un estudio se demostró, que estos compuestos esteroideos inhiben la síntesis de proteínas y la replicación del Adv con índices de selectividad que oscilan entre los 42 y 83 (Romanutti y cols., 2010).

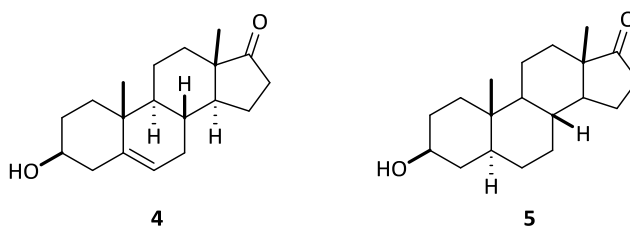


Figura 6. Estructuras de DHEA y EA

[Co(NH₃)₆]Cl₃ es un complejo, un metal de transición. Posee actividad anti-viral de amplio espectro. Debido a su alta densidad de carga positiva, el complejo se une fuertemente a la nucleótidos con carga negativa y provoca la condensación del ADN de doble cadena viral. Se perturba el proceso de empaquetamiento del ADN viral. Un estudio realizado por Knight et al., 2010 mostró que con la presencia de [Co(NH₃)₆]Cl₃, las células infectadas con Adv sobrevivieron mejor y la expresión viral de células infectadas disminuyó, lo que demuestra que [Co(NH₃)₆]Cl₃ tiene actividad anti-Adv (Knight y cols., 2010).

Además existen estudios del uso de anticuerpos monoclonales (Cao y Lam, 2003), camptotecina (CPT) (Pantazis y cols., 1999) (**6**), polímeros solubles en agua de arbidol (Eropkin y cols., 2009), estavudina (D'Cruz y Uckun, 2005) (**7**), micro-ARN (Cawood y cols., 2009), terapia de inmunoglobulina intravenosa (IGIV) e inmunoterapia de células T, para el tratamiento contra Adv (García y cols., 2007; Lenaerts y cols., 2008; Saquib y cols., 2010; Stiehm y cols., 2004) .

Incluso el grupo de investigación de Gao ha descubierto en su estudio que la shikonina (**8**), compuesto que se encuentra en la especie *Lithospermum erythrorhizon*, planta de prescripción común en la medicina china tradicional, es inhibidor del crecimiento de Adv tipo 3 (Gao y cols., 2011).

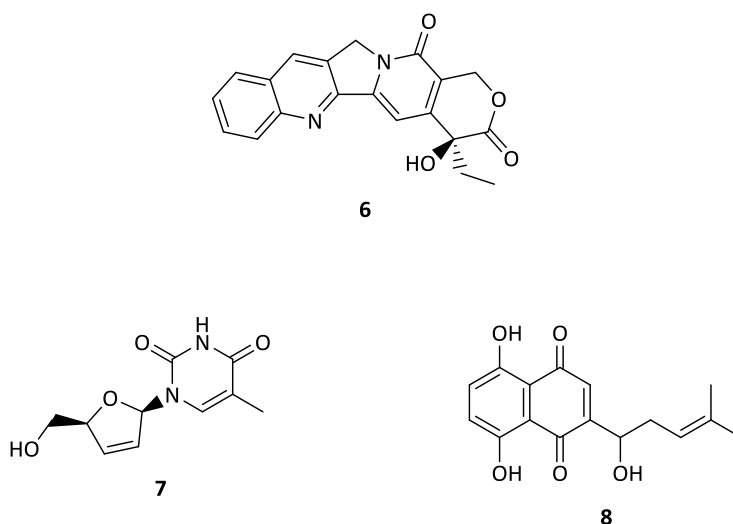


Figura 7. Estructura de camptotecina, estavudina y chikonina.

El grupo de investigación del Dr. Sánchez-Céspedes ha descrito un derivado de piperazin-2-ona trisustituida como un potente agente antiadenovirus (**9**). Estudios mecanísticos demostraron que puede interactuar con las proteínas virales esenciales para la replicación del ADN del Adv en el núcleo, produciendo un bloqueo en la replicación del ADN que indirectamente produce impactos en la transcripción (Sánchez-Céspedes y cols., 2014).

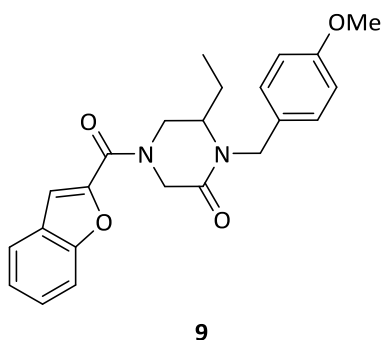


Figura 8. Estructura del derivado de piperazin-2-ona trisustituido

El presente Trabajo Fin de Grado (TFG) se engloba dentro de una de las líneas de investigación que se llevan a cabo en el Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla, sobre la búsqueda de nuevos compuestos con potencial actividad anti-adenovirus. Está enmarcado en la colaboración con el grupo del Dr. Sánchez-Céspedes del Instituto de Biomedicina de Sevilla. Dentro de esta línea, el grupo de investigación ha publicado recientemente el diseño y síntesis de una quimioteca de 54 compuestos derivados de piperazina y la evaluación de su actividad biológica como agentes antiadenovirus, seleccionándose 6 compuestos finales que presentaron alta actividad antiviral (IC_{50} : 1,1-4,7 μM) combinada con bajo perfil de toxicidad (CC_{50} : 131,8-199,8 μM) (Sánchez-Céspedes, 2016).

Las estructuras de las piperazinas 2-fenil sustituidas **10**, **11**, **12**, **13**, **14** y **15** seleccionadas por su alta actividad antivírica (IC_{50} : 2,1-4,7 μM) en combinación con su bajo perfil de toxicidad (CC_{50} : 131,8-199,8 μM) se muestran en la Figura 9. Cumplen en relación a esas propiedades los requisitos para ser candidatos para nuevos fármacos anti-Adv.

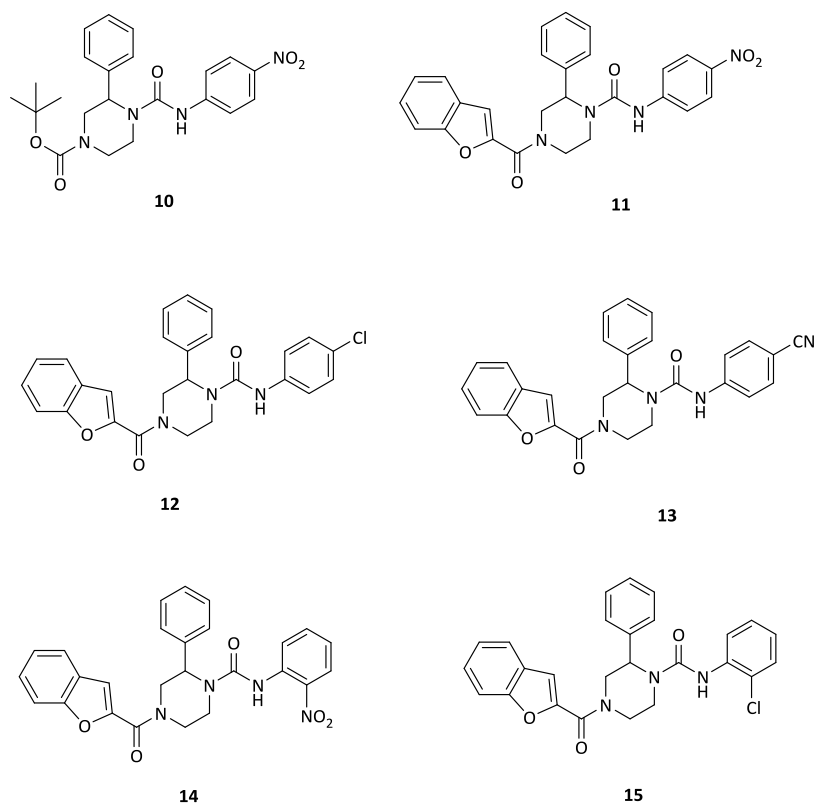
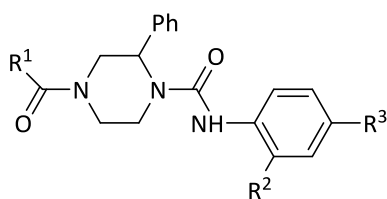


Figura 9. Compuestos **10-15**, seleccionados en la quimioteca sintetizada por su mejor perfil de actividad y toxicidad

De esta forma, la estructura general de estos compuestos se muestra en la Figura 10.



R¹: ^t butil o benzofuranil

R², R³: grupos electrón atrayentes

Figura 10. Estructura general derivados de 2-fenilpiperazina seleccionados

Se piensa que el mecanismo de inhibición del virus en estos compuestos se da en la interferencia de la replicación del ADN viral o podría afectar a la transcripción, que es requisito para la posterior replicación del ADN (Sánchez-Céspedes y cols., 2016).

3. OBJETIVOS

El presente Trabajo Fin de Grado se enmarca en una línea de investigación centrada en la búsqueda y preparación de nuevos compuestos con potencial actividad biológica, y en concreto en este trabajo, actividad antiadenovirus. Para la consecución de este objetivo global se plantearon varios objetivos parciales.

1) **Diseño de nuevos compuestos.** Plantear, en base a los antecedentes generales publicados por nuestro grupo (Sánchez-Céspedes y cols., 2016) y tomando el compuesto **10** como prototipo (Figura 9), el diseño de nuevos análogos que, a priori, posean rasgos estructurales que les confieran actividad antiadenovirus. Las estructuras de los nuevos compuestos presentados en esta memoria se diseñarán conservando aspectos estructurales que confieren actividad e introduciendo modificaciones sucesivas en el prototipo seleccionado, siendo la modificación más destacable y que estará presente en los nuevos compuestos, el reemplazo de la función carbamato en el nitrógeno 4 por una función amida manteniendo sustituyentes electrón atrayentes en el anillo aromático (Figura 10).

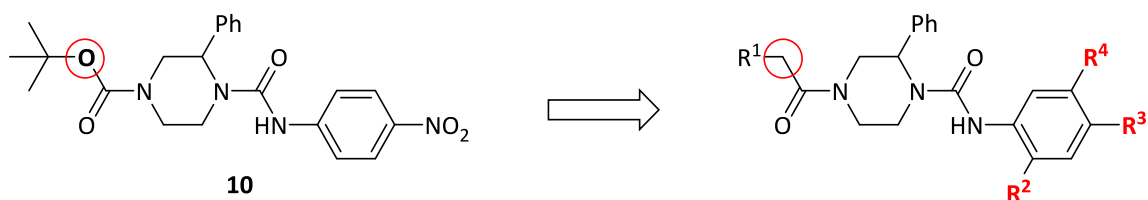


Figura 11. Diseño de análogos al compuesto **10**

2) **Síntesis de los nuevos compuestos diseñados.** Emplear una metodología sintética sencilla que transcurra con altos rendimientos.

3) **Análisis estructural de los nuevos compuestos.** Los nuevos compuestos obtenidos serán sometidos a los correspondientes estudios que permitan confirmar la estructura propuesta. En concreto se realizarán sus espectros de Masas y de Resonancia Magnética Nuclear. Para la realización de estos estudios se contará con la colaboración de los Servicios de Espectrometría de Masas y de Resonancia Magnética Nuclear respectivamente del CITIUS de la Universidad de Sevilla.

4. METODOLOGÍA

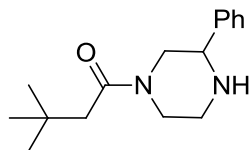
4.1. Métodos generales

Todos los reactivos, disolventes y materiales de partida fueron obtenidos a partir de proveedores comerciales y usados directamente sin previa purificación. Las evaporaciones fueron realizadas a presión reducida en rotavapor. Las reacciones fueron monitorizadas por cromatografía en capa fina (TLC) en soportes de aluminio Kieselgel 60 F254 y detector UV para su visualización. La cromatografía en columna fue realizada en Silica Gel 60. Los rendimientos obtenidos proceden de los productos purificados. Los puntos de fusión fueron medidos en un aparato Stuart Melting Point SMP 10 y están sin corregir. Los espectros de masas (MS) fueron registrados en un espectrómetro de masas Micromass AUTOSPECQ mediante las técnicas de ionización química (CI) a 150 eV y bombardeo de átomos rápidos (FAB) usando una matriz de tioglicerol. Los espectros de masas de alta resolución (HRMS) se registraron con una resolución de 10.000. Los espectros de resonancia magnética nuclear (NMR) fueron realizados a 25 °C en un espectrómetro Bruker AV500 a 500 MHz para ^1H y 125 MHz para ^{13}C . Los desplazamientos químicos (δ) están expresados en ppm en la escala relativa al tetrametilsilano (TMS). Los experimentos COSY, DEPT, HSQC y NOESY fueron realizados con objeto de asignar las señales en el espectro de NMR.

4.2. Procedimiento para la obtención de monoamidas derivadas de 2-fenilpiperazina

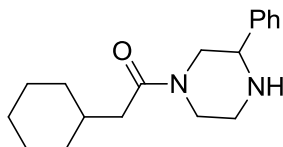
A una disolución de 2-fenilpiperazina (5,0 mmol) y piridina (5,0 mmol) en diclorometano seco (50 ml) enfriada en un baño de hielo a 0 °C se le añade lentamente el correspondiente reactivo (2,5 mmol) disuelto en diclorometano seco (10 mL). La reacción se deja estar a esa temperatura y evolucionar hasta temperatura ambiente durante 24 h (hasta que la cromatografía en capa fina indica que todo el producto de partida ha reaccionado). La mezcla de reacción se procesa evaporando a sequedad. El producto se purifica por cromatografía en columna.

4.2.1. 1-(3,3-Dimetilbutanoil)-3-fenilpiperazina (16)



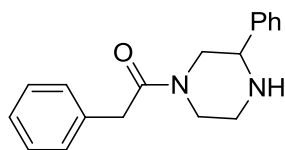
Se obtuvo el producto como un sirupo mediante cromatografía en columna empleando acetato de etilo-metanol (20:1) como eluyente (500 mg; 77% rendimiento). MS (CI): m/z 261 (100%) $[M+H]^+$. 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7,45-7,27 (m, 5H), 4,44-4,39 (m, 1H), 3,94-3,85 (m, 1H), 3,58 (dd, $J = 2.3$ Hz, $J = 10.3$ Hz, 1H), 3,31 (sa, 1H), 3,11-2,99 (m, 2H), 2,91-2,68 (m, 1H), 2,61-2,57 (m, 1H), 2,31-2,20 (m, 2H), 1,02, 1,00 (2s, 9H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 169,3, 169,2, 142,2, 141,9, 128,2, 128,1, 127,4, 127,3, 127,0, 126,9, 60,1, 59,4, 53,5, 48, 1, 46,4, 45,9, 45,5, 43,8, 43,6, 41,1, 40,1, 30,9, 29,8. HRMS (m/z): calcd. para $C_{16}H_{25}N_2O$ 261,1961 $[M+H]^+$; encontrado 261,1956.

4.2.2. 1-(2-Ciclohexilacetil)-3-fenilpiperazina (17)



Se obtuvo el producto como un sirupo mediante cromatografía en columna empleando acetato de etilo-metanol (30:1) como eluyente (410 mg; 57% rendimiento). MS (CI): m/z 287 (100%) $[M+H]^+$. 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7,40-7,27 (m, 5H), 4,67-4,63 (m, 1H), 3,84-3,79 (m, 1H), 3,69-3,67 (m, 1H), 3,26-3,02 (m, 2H), 2,91-2,83 (m, 1H), 2,59-2,54 (m, 1H), 2,29-2,16 (m, 2H), 2,10-1,91 (m, 1H), 1,85-1,65 (m, 5H), 1,33-1,21 (m, 2H), 1,18-1,10 (m, 1H), 1,02-0,92 (m, 2H). ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 170,9, 141,3, 141,1, 128,7, 128,5, 128,2, 127,8, 127,0, 126,9, 61,4, 60,2, 53,6, 48,8, 46,7, 46,3, 46,1, 41,8, 40,8, 40,7, 35,3, 35,2, 33,5, 33,4, 33,3, 26,3, 26,2. HRMS (m/z): calcd. para $C_{18}H_{27}N_2O$ 287,2118 $[M+H]^+$; encontrado 287,2111.

4.2.3. 3-Fenil-1-(2-fenilacetil)piperazina (18)

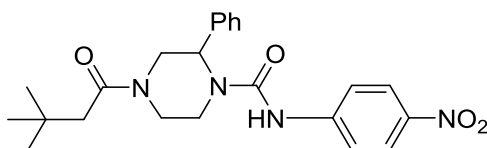


Se obtuvo el producto como un sirupo mediante cromatografía en columna empleando acetato de etilo-metanol (100:1) como eluyente (390 mg; 56% rendimiento). MS (CI): m/z 303 (100%) $[M+H]^+$. 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7,39-7,12 (m, 10H), 4,65-4,63 (m, 1H), 3,82-3,64 (m, 3H), 3,28-3,14 (m, 1H), 3,09-2,94 (m, 2H), 2,82-2,73 (m, 1H), 2,65-2,58 (m, 1H), 2,29-2,07 (m, 1H). ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 169,5, 169,4 141,0, 140,8, 135,3, 135,1, 128,9, 128,8, 128,7, 128,6, 128,5, 128,0 127,8, 127,0, 126,9, 126,8, 60,8, 60,0, 53,8, 48,9, 46,5, 46,2, 45,9, 42,0, 41,4, 41,2.

4.3. Procedimiento general para la obtención de derivados de urea

A una disolución de la correspondiente amina (0,4 mmol) en diclorometano seco (20 ml) se le añade el correspondiente isocianato (0,5 mmol). La reacción se deja estar hasta que la cromatografía en capa fina indica que todo el producto de partida ha reaccionado. La mezcla de reacción se procesa evaporando a sequedad. El producto se purifica por cromatografía en columna.

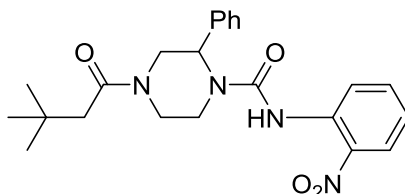
4.3.1. 4-(3,3-Dimetilbutanoil)-2-fenil-1-[(4-nitrofenil)aminocarbonil]piperazina (19)



Se obtuvo el producto como un sólido mediante cromatografía en columna empleando diclorometano-metanol (50:1) como eluyente (153 mg; 90% rendimiento); P.F. 101-103 °C; MS (FAB): m/z 447 (100%) $[M+Na]^+$. 1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ 9,40, 9,29 (2s, 1H), 8,24-8,15 (m, 2H), 7,79-7,61 (m, 2H), 7,37-7,25 (m, 5H), 5,58, 5,45 (2s, 1H), 4,33-3,47 (m, 3H), 3,25-3,05 (m, 2H), 2,31-2,09 (m, 2H), 1,06-0,97 (m 1H), 0,92-0,87 (2s, 9H). ^{13}C NMR (125 MHz, $DMSO-d_6$) δ 181,9, 181,8, 170,4, 170,2, 156,6, 133,8, 127,6, 113,2, 55,2, 51,2, 50,9, 49,2, 45,1, 44,4, 43,6, 43,4, 42,8, 42,2, 40,7, 29,7, 15,2,

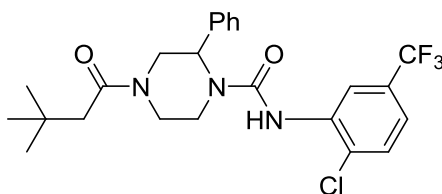
14,8. HRMS (m/z): calcd. para $C_{23}H_{28}N_4O_4Na$ 447,2003 $[M+Na]^+$; encontrado 447,1999. Anal. calcd. para $C_{23}H_{28}N_4O_4$: C, 65,08; H, 6,65; N, 13,20. Encontrado: C, 64,76; H, 6,60; N, 12,90.

4.3.2. 4-(3,3-Dimetilbutanoil)-2-fenil-1-[(2-nitrofenil)aminocarbonil]piperazina (20)



Se obtuvo el producto como un sólido mediante cromatografía en columna empleando diclorometano-metanol (60:1) como eluyente (153 mg; 90% rendimiento); P.F. 93-96 °C; MS (FAB): m/z 447 (100%) $[M+Na]^+$. 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9,44, 9,39 (2s, 1H), 7,99-7,63 (m, 3H), 7,43-7,20 (m, 6H), 5,46, 5,36 (2s, 1H), 4,30-3,52 (m, 3H), 3,28-3,10 (m, 2H), 2,29-2,09 (m, 2H), 1,31-1,00 (m, 1H), 0,92-0,87 (2s, 9H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 170,2, 170,0, 154,4, 140,0, 139,8, 139,2, 138,4, 134,6, 134,4, 134,3, 134,1, 128,5, 128,4, 127,2, 127,1, 126,5, 126,4, 125,0, 123,9, 123,5, 123,1, 122,9, 55,2, 54,1, 48,6, 45,5, 43,6, 43,4, 42,4, 41,2, 30,9, 29,5, 13,8. HRMS (m/z): calcd. para $C_{23}H_{28}N_4O_4Na$ 447,2003 $[M+Na]^+$; encontrado 447,1996. Anal. calcd para $C_{23}H_{28}N_4O_4$: C, 65,08; H, 6,65; N, 13,20. Encontrado: C, 64,99; H, 6,57; N, 12,82.

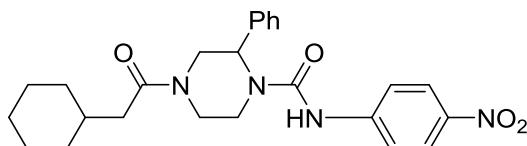
4.3.3. 1-[(2-Cloro-5-trifluorofenil)aminocarbonil]-4-(3,3-dimetilbutanoil)-2-fenilpiperazina (21)



Se obtuvo el producto como un sirupo mediante cromatografía en columna empleando diclorometano-metanol (200:1) como eluyente (173 mg; 90% rendimiento); MS (FAB): m/z 504 (100%) $[M+Na]^+$. 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8,43 (s, 1H), 8,07-8,03 (m, 2H), 7,72-7,66 (m, 2H), 7,50-7,34 (m, 4H), 5,47, 5,36 (2s, 1H),

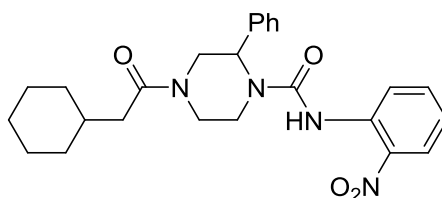
4,80-4,74 (m, 1H), 4,10-4,04 (m, 1H), 3,92-3,84 (m, 1H), 3,42-3,34 (m, 2H), 3,27-3,19 (m, 2H), 2,29-2,09 (m, 2H), 0,91-0,88 (2s, 9H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 175,4, 175,2, 159,8, 159,7, 144,7, 144,0, 142,7, 142,5, 136,2, 135,7, 135,5, 133,8, 133,7, 133,3, 133,1, 131,7, 127,1, 126,8, 126,3, 126,1, 125,0, 123,9, 59,1, 53,7, 50,7, 48,7, 47,7, 46,8, 36,1, 36,0, 34,8, 33,6, 13,8.

4.3.4. 4-(2-Ciclohexilacetil)-2-fenil-1-[(4-nitrofenil)aminocarbonil]piperazina (22)



Se obtuvo el producto como un sólido mediante cromatografía en columna empleando diclorometano-metanol (60:1) como eluyente (150 mg; 83% rendimiento); P.F. 159-161 °C; MS (FAB): m/z 473 (100%) $[\text{M}+\text{Na}]^+$. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9,40, 9,32 (ds, 1H), 8,24-8,14 (m, 2H), 7,78-7,71 (m, 2H), 7,37-7,25 (m, 5H), 5,55, 5,47 (2s, 1H), 4,86-4,83 (m, 1H), 4,28-3,46 (m, 3H), 3,29-3,10 (m, 2H), 2,24-1,94 (m, 2H), 1,62-1,44 (m, 6H), 1,19-0,99 (m 3H), 0,92-0,71 (m, 2H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 170,5, 170,4, 154,4, 154,2, 147,2, 147,1, 141,0, 139,7, 138,7, 128,5, 128,4, 127,0, 126,4, 126,3, 125,0, 124,7, 118,5, 54,5, 53,8, 48,0, 44,8, 42,8, 41,2, 34,6, 34,1, 32,5, 32,4, 25,8, 25,7, 25,6, 25,5. HRMS (m/z): calcd. para $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_4\text{Na}$ 473,2159 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; encontrado 473,2147. Anal. calcd para $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_4$: C, 66,65; H, 6,71; N, 12,44. Encontrado: C, 66,51; H, 6,79; N, 12,22.

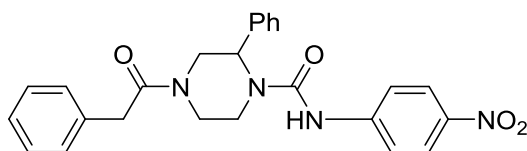
4.3.5. 4-(2-Ciclohexilacetil)-2-fenil-1-[(2-nitrofenil)aminocarbonil]piperazina (23)



Se obtuvo el producto como un sólido mediante cromatografía en columna empleando diclorometano-metanol (70:1) como eluyente (158 mg; 88% rendimiento); P.F. 139-

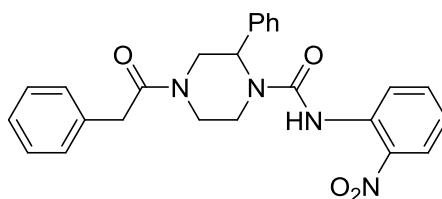
141 °C; MS (FAB): m/z 473 (100%) $[M+Na]^+$. 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9,42, 9,38 (ds, 1H), 7,98-7,96 (m, 1H), 7,84-7,64 (m, 2H), 7,43-7,21 (m, 6H), 5,45, 5,36 (2s, 1H), 4,82-4,79 (m, 1H), 4,08-3,51 (m, 3H), 3,28-3,18 (m, 2H), 2,22-1,92 (m, 2H), 1,62-1,46 (m, 6H), 1,18-1,06 (m 3H), 0,91-0,73 (m, 2H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 170,6, 170,5, 154,4, 140,6, 140,0, 139,3, 138,5, 134,6, 134,4, 134,3, 134,1, 128,5, 128,3, 127,1, 127,0, 126,4, 126,3, 125,0, 123,8, 123,5, 123,1, 122,9, 55,0, 54,2, 48,1, 44,7, 42,7, 41,3, 34,5, 32,5, 32,4, 32,3, 25,8, 25,7, 25,6, 25,5. HRMS (m/z): calcd. para $C_{25}H_{30}N_4O_4Na$ 473,2159 $[M+Na]^+$; encontrado 473,2153. Anal. calcd para $C_{25}H_{30}N_4O_4$: C, 66,65; H, 6,71; N, 12,44. Encontrado: C, 66,28; H, 6,66; N, 12,12.

4.3.6. 2-Fenil-4-(2-fenilacetil)-1-[(4-nitrofenil)aminocarbonil]piperazina (24)



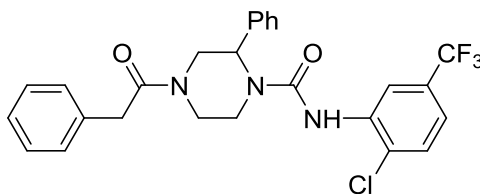
Se obtuvo el producto como un sólido mediante cromatografía en columna empleando diclorometano-metanol (60:1) como eluyente (174 mg; 98% rendimiento); P.F. 98-100 °C; MS (FAB): m/z 467 (100%) $[M+Na]^+$. 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9,34, 9,31 (ds, 1H), 8,24-8,15 (m, 2H), 7,77-7,72 (m, 2H), 7,36-7,03 (m, 10H), 5,57-5,44 (2s, 1H), 4,90-4,87 (m, 1H), 4,36-4,10 (m, 1H), 4,00-3,94 (m, 1H), 3,83-3,45 (m, 3H), 3,31-2,89 (m, 2H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 169,6, 169,4, 154,3, 154,2, 147,2, 147,1, 141,0, 139,5, 135,5, 135,4, 129,1, 128,6, 128,5, 128,4, 128,2, 128,1, 127,0, 126,4, 126,2, 124,6, 118,5, 54,5, 53,6, 48,0, 45,0, 42,7, 41,6, 28,4, 26,8. HRMS (m/z): calcd. para $C_{24}H_{24}N_4O_4Na$ 467,1690 $[M+Na]^+$; encontrado 467,1677.

4.3.7. 2-Fenil-4-(2-fenilacetil)-1-[(2-nitrofenil)aminocarbonil]piperazina (25)



Se obtuvo el producto como un sólido mediante cromatografía en columna empleando diclorometano-metanol (70:1) como eluyente (170 mg; 96% rendimiento); P.F. 55-57 °C; MS (FAB): m/z 467 (100%) $[M+Na]^+$. 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9,41 (s, 1H), 8,004-7,64 (m, 3H), 7,40-7,04 (m, 11H), 5,46-5,29 (2s, 1H), 4,87-4,84 (m, 1H), 4,29-4,09 (m, 1H), 3,96-3,81 (m, 1H), 3,76-3,49 (m, 3H), 3,33-3,30 (m, 1H), 3,02-2,97 (m, 1H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 169,7, 169,4, 154,4, 147,2, 140,6, 139,7, 139,1, 138,4, 135,5, 135,4, 134,6, 134,4, 134,1, 129,1, 128,6, 128,5, 128,4, 128,2, 127,2, 127,1, 126,5, 126,3, 126,2, 125,1, 125,0, 123,9, 123,4, 123,1, 122,9, 55,2, 54,0, 48,0, 45,1, 42,9, 41,7, 28,4, 28,0, 26,8. HRMS (m/z): calcd. para $C_{24}H_{24}N_4O_4Na$ 467,1690 $[M+Na]^+$; encontrado 467,1678.

4.3.8. 1-[(2-Cloro-5-trifluorofenil)aminocarbonil]-2-fenil-4-(2-fenilacetil) piperazina (26)



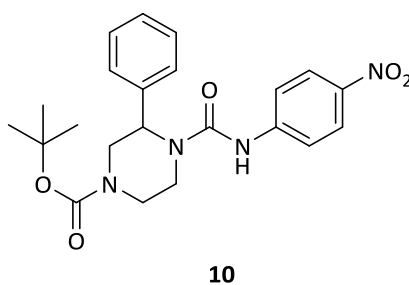
Se obtuvo el producto como un sólido mediante cromatografía en columna empleando diclorometano-metanol (70:1) como eluyente (192 mg; 96% rendimiento); P.F. 58-61 °C; MS (FAB): m/z 524 (100%) $[M+Na]^+$. 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8,37 (s, 1H), 8,11-8,02 (m, 2H), 4,00-3,81 (m, 2H), 7,70-7,05 (m, 11H), 5,46, 5,30 (2s, 1H), 4,73-4,70 (m, 1H), 4,22-4,09 (m, 1H), 3,76-3,55 (m, 3H), 3,49-3,39 (m 2H), 3,13-3,07 (m, 1H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 169,6, 169,5, 154,5, 154,4, 139,3, 138,8, 137,5 137,2, 135,5, 135,4, 130,4, 130,3, 129,1, 128,7, 128,5, 128,2, 126,5, 126,4, 126,3, 126,2, 55,6, 54,4, 48,0, 45,0, 42,9, 41,9. HRMS (m/z): calcd. para $C_{26}H_{23}N_3ClF_3O_2Na$ 524,1323 $[M+Na]^+$; encontrado 524,1316.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este Trabajo de Fin de Grado se ha dirigido a realizar modificaciones en los compuestos más activos que ha desarrollado el grupo de investigación del Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica de la Universidad de Sevilla, buscando nuevas estructuras con potencial actividad antiadenovirus y un buen perfil de toxicidad.

La obtención de los nuevos derivados se llevó a cabo mediante una metodología sintética corta, constituida por reacciones químicas sencillas que transcurren con elevado rendimiento.

El punto de partida de este trabajo de investigación es el compuesto **10**, derivado de 2-fenilpiperazina con un grupo *t*-butoxicarbonilo en el nitrógeno 4.



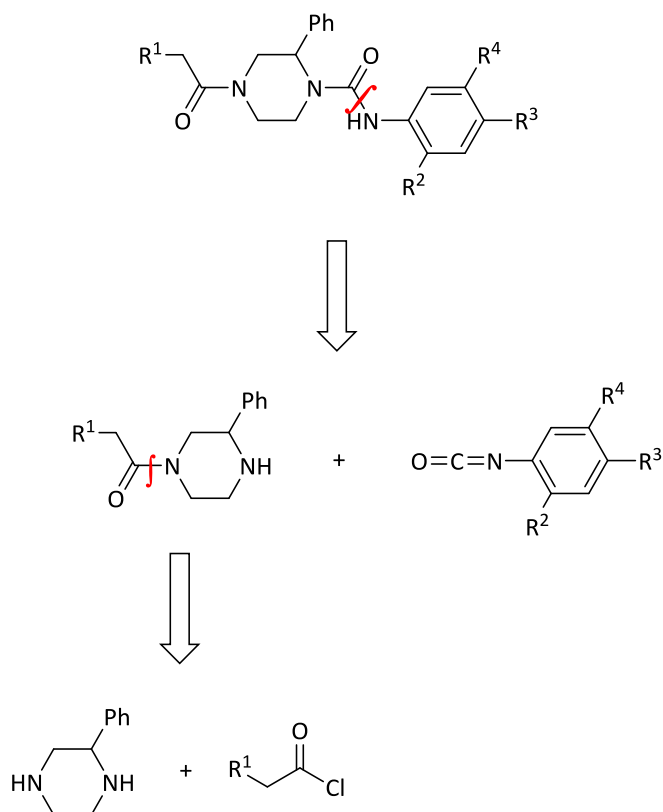
La aproximación realizada para diseñar nuevos compuestos análogos a **10** tiene dos vertientes, una conservadora y otra que introduce cambios en la estructura. La vertiente conservadora se basa en mantener aquellos rasgos estructurales que en los estudios de relación estructura-actividad en este tipo de compuestos, optimizaban la actividad (Sánchez-Céspedes y cols., 2016), en concreto:

- El esqueleto de 2-fenilpiperazina
- La función urea con anillo aromático sustituido con grupos electrón atrayentes sobre el nitrógeno 1

Y la vertiente que introduce cambios se centra:

- En primer lugar el reemplazo de la función uretano por una función amida, teniendo en mente la modificación isostérica O por CH₂.
- En segundo lugar introducir cambios en los sustituyentes del anillo aromático y en su posición.

De esta forma el análisis retrosintético para la preparación de los nuevos compuestos planteados es:



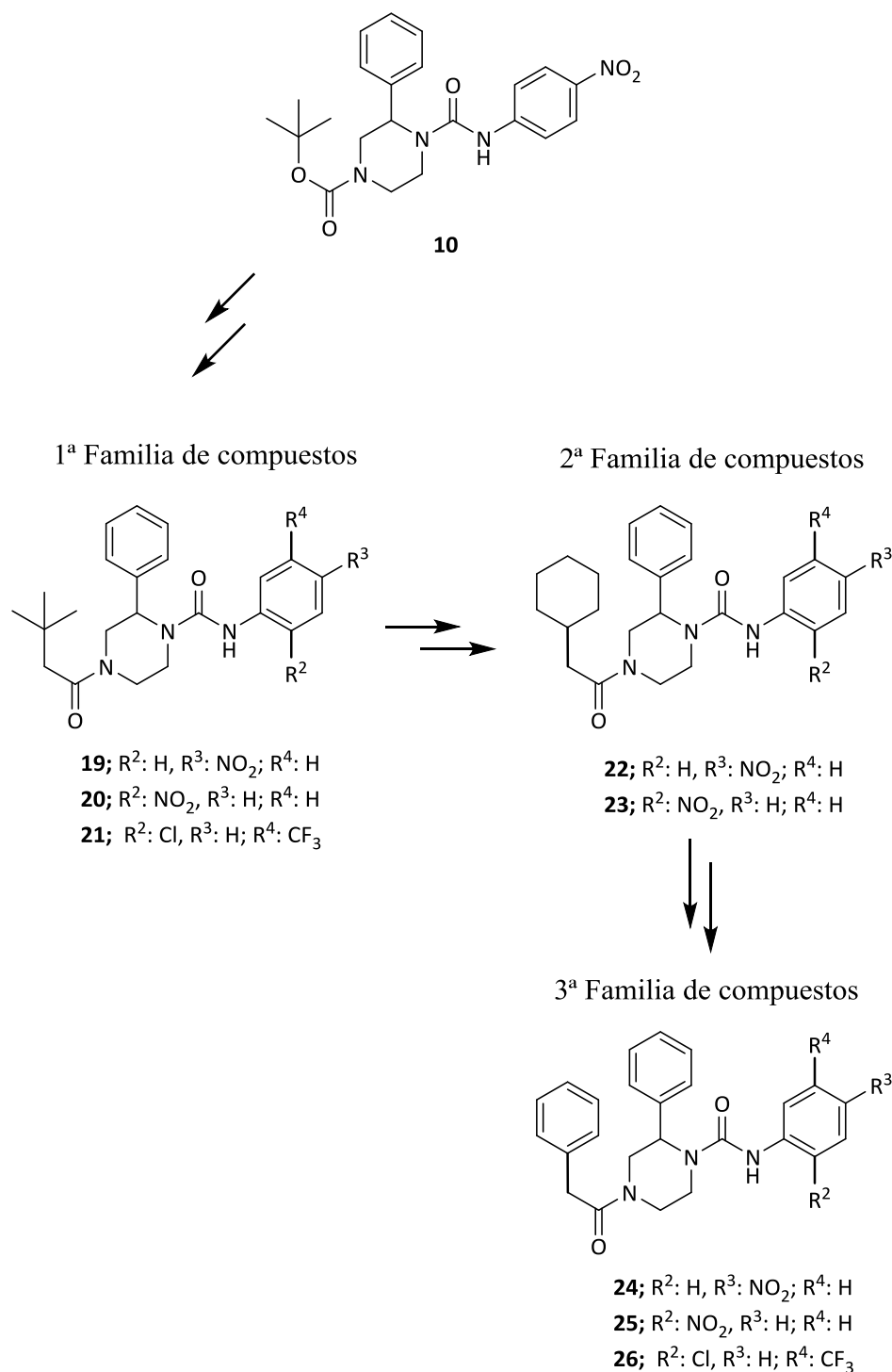
Esquema 1. Análisis retrosintético para el diseño de los análogos al compuesto **10**

Se ha preparado una pequeña colección de 8 compuestos agrupados en tres familias, donde el elemento diferenciador es el grupo R sobre la función acilo en la nueva amida introducida en el nitrógeno 4. A partir del compuesto **10**, se genera la primera familia, mediante la modificación isostérica consistente en el reemplazo de la función carbamato por una amida (poseedora de un grupo *t*-butilo), conservando el grupo NO₂ en posición *para* sobre el anillo aromático (compuesto **19**, igual que en el prototipo), para luego cambiar su posición a *orto* (**20**) y finalmente obtener un análogo disustituido en el anillo aromático (con grupos electrón atrayentes), compuesto **21**.

La segunda familia, se genera a partir de la primera por reemplazo del grupo *t*-butilo por un grupo *c*-hexilo, una cadena cicloalquílica. Los grupos en el anillo aromático seguirán siendo *p*-nitro y *o*-nitro (compuestos **22** y **23** respectivamente).

La tercera familia, se genera a partir de la segunda, donde ahora lo que era un anillo de ciclohexilo es un anillo de benceno. Y los tres compuestos de esta familia, mantienen los sustituyentes en el anillo aromático, grupo NO₂ en *para* (**24**), grupo NO₂ en *orto* (**25**) y un derivado disustituido (**26**).

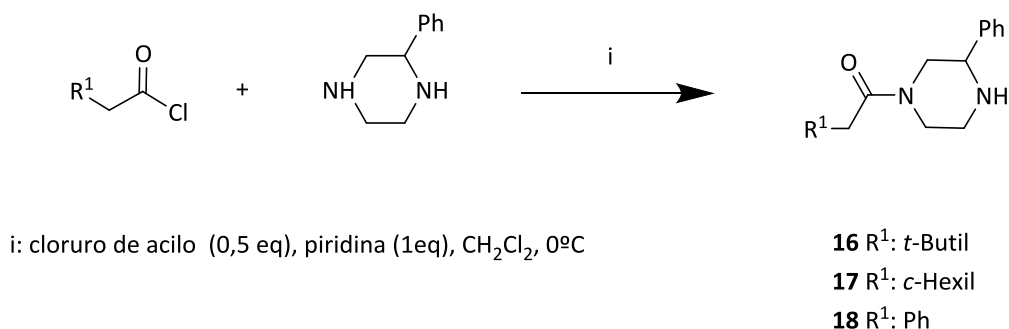
De esta forma, se dispondrá, a la hora de hacer los ensayos, de una colección de compuestos, que permita en base a los resultados, extraer conclusiones de relación estructura-actividad, es decir en qué medida los cambios introducidos repercuten en la actividad.



Esquema 2. Generación de las familias de análogos al compuesto **10**

La síntesis se inicia con la preparación, a partir del compuesto de partida comercial 2-fenilpiperazina, de las monoamidas **16-18** mediante una reacción de acilación regioselectiva, que no requiere llevar a cabo etapas de protección-desprotección. Se

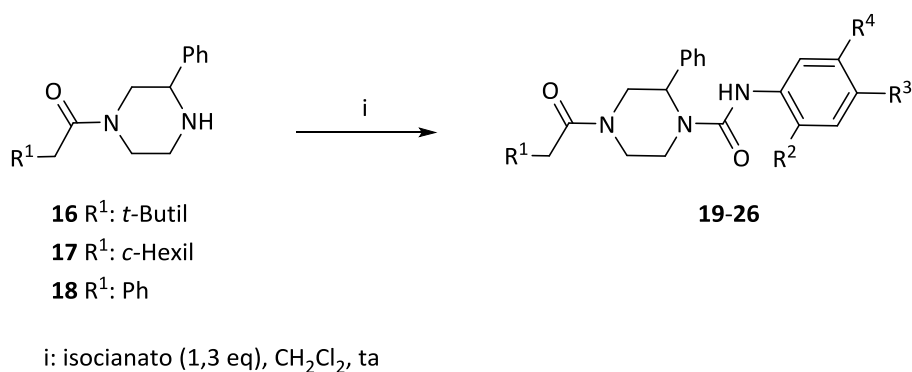
realiza en condiciones suaves, controlando los equivalentes de reactivo, tiempo de adición del mismo, temperatura y tiempo de reacción (Esquema 3).



Esquema 3. Reacción de síntesis de los derivados acetilados

Las tres monoamidas **16-18** se obtienen con rendimientos entre 60-70%. El espectro de ¹H-RMN muestra señales características para cada producto, singulete para 9 protones en torno a 1,0 ppm debido al grupo *t*-butilo del compuesto **16**, multipletes que integran para varios protones a campo alto (1,8-1,2 ppm) debidos al grupo ciclohexilo del compuesto **17** así como la presencia de mayor número de protones aromáticos (7-8 ppm) en el compuesto **18**. Y se aprecia en todos ellos el multiplete a 2,3-2,1 ppm, que integra para dos protones atribuido al metileno en la función amida sobre el nitrógeno en 4. Como señal característica en el espectro de ¹³C-RMN destacar la señal que aparece entre 169-170 ppm, debida al carbonilo de la función amida introducida.

Los compuestos **16-18** sirvieron como precursores para la preparación de los productos finales **19-26**, para ello, se les hizo reaccionar con los correspondientes isocianatos a temperatura ambiente en diclorometano como disolvente. La formación de las correspondientes ureas aromáticas por ataque nucleofílico del N1 de la 2-fenilpiperazina monoacilada en 4 sobre el carbono carbonílico del isocianato, transcurre de forma rápida y con muy buenos rendimientos (Esquema 4, Tabla 2).



Esquema 4. Reacción de obtención de derivados de urea

Tabla 3. Estructura de los nuevos derivados de urea **19-26**

Compuesto	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
19	<i>t</i> -Butil	H	NO ₂	H
20	<i>t</i> -Butil	NO ₂	H	H
21	<i>t</i> -Butil	Cl	H	CF ₃
22	<i>c</i> -Hexil	H	H	NO ₂
23	<i>c</i> -Hexil	NO ₂	H	H
24	Ph	H	NO ₂	H
25	Ph	NO ₂	H	H
26	Ph	Cl	H	CF ₃

Las estructuras de las nuevas ureas **19-26** se corroboraron por los correspondientes espectros de RMN. En los espectros de ¹H-RMN de los compuestos **19-26** se aprecia el singlete que integra para un protón a 9,4 ppm aproximadamente característico del protón en la función urea (salvo los derivados disustituídos **21** y **26** en los que aparece a 8,5 ppm). En los espectros de ¹³C-RMN se aprecia la señal en torno a 154 ppm debida al nuevo carbonilo introducido en la función urea.

6. CONCLUSIONES

Como continuación a la línea de investigación que se lleva a cabo en el Dpto. de Química Orgánica y Farmacéutica de la Universidad de Sevilla enfocada a la síntesis de compuestos con actividad anti-adenovirus se ha realizado:

- 1) El diseño de nuevos compuestos con rasgos estructurales que les puedan conferir actividad anti-adenovirus, planteados en base a los antecedentes generales sobre nuevos compuestos activos y en concreto dentro de los resultados previos del grupo de investigación, se basó en el compuesto 4-(*t*-butoxicarbonil)-2-fenil-1-[(4-nitrofenil)aminocarbonil]piperazina (**10**) que ha servido como prototipo. Se ha realizado conservando los rasgos estructurales que se ha descrito que son necesarios para la actividad biológica e introduciendo cambios en la otra parte de la molécula. La función carbamato ha sido reemplazada ahora por amidas derivadas de diferentes residuos acetil 2-alquilado y se ha modificado la posición y/o la naturaleza de los grupos electrón atrayentes en el anillo aromático.
- 2) La síntesis de los nuevos compuestos diseñados se ha realizado siguiendo una metodología sintética sencilla que transcurre con altos rendimientos. Se han sintetizado 3 compuestos intermedios (monoamidas) y 8 compuestos finales nuevos.
- 3) El análisis estructural de los nuevos compuestos que ha permitido confirmar la estructura propuesta. En concreto, se han realizado sus espectros de Masas y de Resonancia Magnética Nuclear. Para la realización de estos estudios se ha contado con la colaboración de los Servicios de Espectrometría de Masas y de Resonancia Magnética Nuclear del CITIUS y del Servicio de Microanálisis de la Universidad de Sevilla.

7. BIBLIOGRAFÍA

Abarca K, Le Corre N, Perret C, Wietstruck A, Oddó D, Barriga F. Infección diseminada por adenovirus de curso fatal en un niño inmunocomprometido. *Rev Chil Infectol.* 2008; 25 (2): 127-132.

Álvarez AM, Catalán P, Alba A, Zubleta M. Profilaxis de infección por virus respiratorios en niños y adultos sometidos a trasplante de órganos sólidos y precursores hematopoyéticos. *Rev Chil Infectol.* 2012; 29 (1): 33-36.

Andersson EK, Strand M, Edlund K, Lindman K, Enquist PA, Spjut S et al. Small-Molecule Screening Using a Whole-Cell Viral Replication Reporter Gene Assay Identifies 2-[[2 (Benzoylamino)Benzoyl]Amino}-Benzoic Acid as a Novel Antiadenoviral Compound. *Antimicrob Agents Ch.* 2010; 54 (9): 3871-3877.

D'Cruz OJ, Uckun FM. Stampidine: A selective oculo-genital microbicide. *J Antimicrob Chemother.* 2005; 56: 10-19.

Cao Y, Lam L. Bispecific antibody conjugates in therapeutics. *Advan. Drug Delivery Rev.* 2003; 55: 171-197.

Cawood R, Chen HH, Carroll F, Bazan-Peregrino M, van Rooijen N, Leonard WS. Use of Tissue-Specific MicroRNA to Control Pathology of Wild-Type Adenovirus without Attenuation of Its Ability to Kill Cancer Cells. *PLoS Pathog.* 2009; 5. e1000440.

Echevarría M. Adenoviruses in Immunocompromised Hosts. *Clin Microbiol Rev.* 2008; 21: 704-715.

Eropkin MY, Solovskii MV, Smirnova MY, Bryazzhikova TS, Gudkova TM, Konovalova NI. Synthesis and biological activity of water-soluble polymer complexes of arbidol. *Pharm Chem J.* 2009; 43: 563-567.

Ganapathi L, Arnold A, Jones S, Patterson A, Graham D, Harper M et al. Use of cidofovir in pediatric patients with adenovirus infection [version 1; referees: 2 approved, 1

approved with reservations] F1000Research 2016; 5: 758 (doi: 10.12688/f1000research.8374.1).

Gao H, Liu L, Qu ZY, Wei FX, Wang SQ, Chen G et al. Anti-adenovirus Activities of Shikonin, a Component of Chinese Herbal Medicine *in Vitro*. Biol Pharm Bull. 2011; 34(2): 197-202.

García, JM, Español T, Gurbindo MD, Casas CC. Update on the treatment of primary immunodeficiencies. Allergol Immunopathol. 2007; 35: 184–192.

George D, El-Mallawany NK, Jin Z, Geyer M, Della-Latta P, Satwani P et al. Adenovirus infection in paediatric allogeneic stem cell transplantation recipients is a major independent factor for significantly increasing the risk of treatment related mortality. Brit J Haematol. 2011; 156: 99-108.

Graci JD, Cameron CE. Mechanisms of action of ribavirin against distinct viruses. Rev. Med. Virol. 2006; 16: 37-48.

Hilleman MR, Werner JH. Recovery of new agent from patients with acute respiratory illness. Proc Soc Exp Biol Med. 1954; 85 (1): 183-188.

Hoffman JA, Shah AJ, Ross LA, Kapoor N. Adenoviral infections and a prospective trial of cidofovir in pediatric hematopoietic stem cell transplantation. Biol Blood Marrow Transplant. 2001; 7: 388-394.

Humar A, Kumar D, Mazzulli T, Razonable RR, Moussa G, Paya CV et al. A Surveillance Study of Adenovirus Infection in Adult Solid Organ Transplant Recipients. Am J Transplant. 2005; 5: 2555-2559.

Ison MG, Green M. Adenovirus in solid organ transplant recipients. Am J Transplant. 2009; 9 (4): S161-S165.

Knight DA, Hickey TE, Bongard JE, Thach Dzung C, Yngard R, Chang EL. Differential effects of Co(III), Ni(II), and Ru(III) amine complexes on Sindbis virus. J Inorg Biochem. 2010; 104: 592-598.

Lenaerts L, De Clerc E, Naesens L. Clinical Features and treatment of adenovirus infection. *Rev Med Virol*. 2008; 18: 357-374.

Llop A, Valdés-Dapena MM, Zuazo J. *Microbiología y parasitología médicas*. 1ª ed. Ciudad de La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2001.

Lugthart G, Oomen MA, Jol-van der Zijde CM, Ball LM, Bresters D, Kollen WJW et al. The Effect of Cidofovir on Adenovirus Plasma DNA Levels in Stem Cell Transplantation Recipients without T Cell Reconstitution. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015; 21: 293-299.

McGrath WJ, Graziano V, Zabrocka K, Manger WF. First generation inhibitors of adenovirus proteinase. *FEBS letters*. 2013; 587: 2332-2339.

Morfin F, Dupuis-Girod S, Frobert E, Mundweiler S, Carrington D, Sedlacek P et al. Differential susceptibility of adenovirus clinical isolates to cidofovir and ribavirin is not related to species alone. *Antiviral Ther*. 2009; 14: 55-61.

Morfin F, Dupuis-Girod S, Mundweiler S, Falcon D, Carrington D, Sedlacek P et al. In vitro susceptibility of adenovirus to antiviral drugs is species-dependent. *Antiviral Ther*. 2005; 10: 225-1454.

Munksgaard B. Adenovirus. *Am J Transplant*. 2004; 4 (10): 101-104.

Öberg CT, Strand M, Andersson EK, Edlund K, Tran NPN, Mei YF et al. Synthesis, Biological Evaluation, and Structure–Activity Relationships of 2-[2-(Benzoylamino)benzoylamino]benzoic Acid Analogues as Inhibitors of Adenovirus Replication. *J med chem*. 2012; 55: 3170-3181.

Pantazis P, Han ZY, Chatterjee D, Wyche J. Water-insoluble camptothecin analogues as potential antiviral drugs. *J Biomed Sci*. 1999; 6: 1-7.

Paolino K, Sande J, Perez E, Loechelt B, Jantusch B, Painter W et al. Eradication of disseminated adenovirus infection in a pediatric hematopoietic stem cell transplantation recipient using the novel antiviral agent CMX001. *J Clin Virol*. 2011; 50: 167-170.

Quenelle DC, Collins DJ, Wan WB, Beadle JR, Hostetler KY, Kern ER. Oral treatment of cowpox and vaccinia virus infections in mice with ether lipid esters of cidofovir. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48: 404-412.

Ramírez J, Bostock IC, Martin-Onraët A, Calleja S, Sánchez-Cedillo A, Navarro-Vargas LA et al. Fever, Haematuria, and Acute Graft Dysfunction in Renal Transplant Recipients Secondary to Adenovirus Infection: Two Case Reports. Hindawi Publishing Corporation. 2013. ID 195753.

Robinson CM, Singh G, Lee JY, Dehghan S, Rajaiya J, Liu EB et al. Molecular evolution of human adenoviruses. *Sci Rep*. 2013; 3: 1812.

Romanutti C, Bruttomesso AC, Castilla V, Galagovsky LR, Wachsman MB. Anti-Adenovirus Activity of Epiandrosterone and Dehydroepiandrosterone Derivatives. *Chemotherapy*. 2010; 56: 158-165.

Rowe WP, Huebner RJ, Gilmore LK, Parrott RH, Ward TG. Isolation of a cytopathogenic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissue culture. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1953; 84 (3): 570-573.

Sánchez-Céspedes J, Martínez-Aguado P, Vega-Holm M, Serna-Gallego A, Candela JI, Marrugal-Lorenzo JA et al. New 4-Acyl-1phenylaminocarbonyl-2-phenylpiperazine Derivates as Potencial Inhibitors of Adenovirus Infection. Synthesis, Biological Evaluation, and Structure–activity Relationships. *J Med Chem*. 2016. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b00300.

Sánchez-Céspedes J, Moyer CL, Whitby LR, Boger DL, Nemerow GR. Inhibition of adenovirus replication by a trisubstituted piperazin-2-one derivative. *Antir Res*. 2014; 108: 65-73.

Saqib R, Melton LB, Chandrakantan A, Rice KM, Spak CW, Saad RD, Fenves AZ, Barri YM. Disseminated adenovirus infection in renal transplant recipients: The role of cidofovir and intravenous immunoglobulin. *Transpl Infect Dis*. 2010; 12: 77-83.

Smith JG, Wiethoff CM, Stewart PL, Nemerow GR. Adenovirus. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2010; 343: 195-224.

Shors T. Ciclos de replicación viral. Virus: Estudio molecular con orientación clínica. 1ª ed. Buenos Aires: Editorial médica panamericana; 2009. p.46-69.

Shors T. Los virus y el cáncer. Virus: Estudio molecular con orientación clínica. 1ª ed. Buenos Aires: Editorial médica panamericana; 2009. p.242-279.

Stiehm RE, Ochs HD, Winkelstein JA. Immunologic disorders in infants & children. 5ª ed. USA: Elsevier Health Sciences: Philadelphia; 2004.

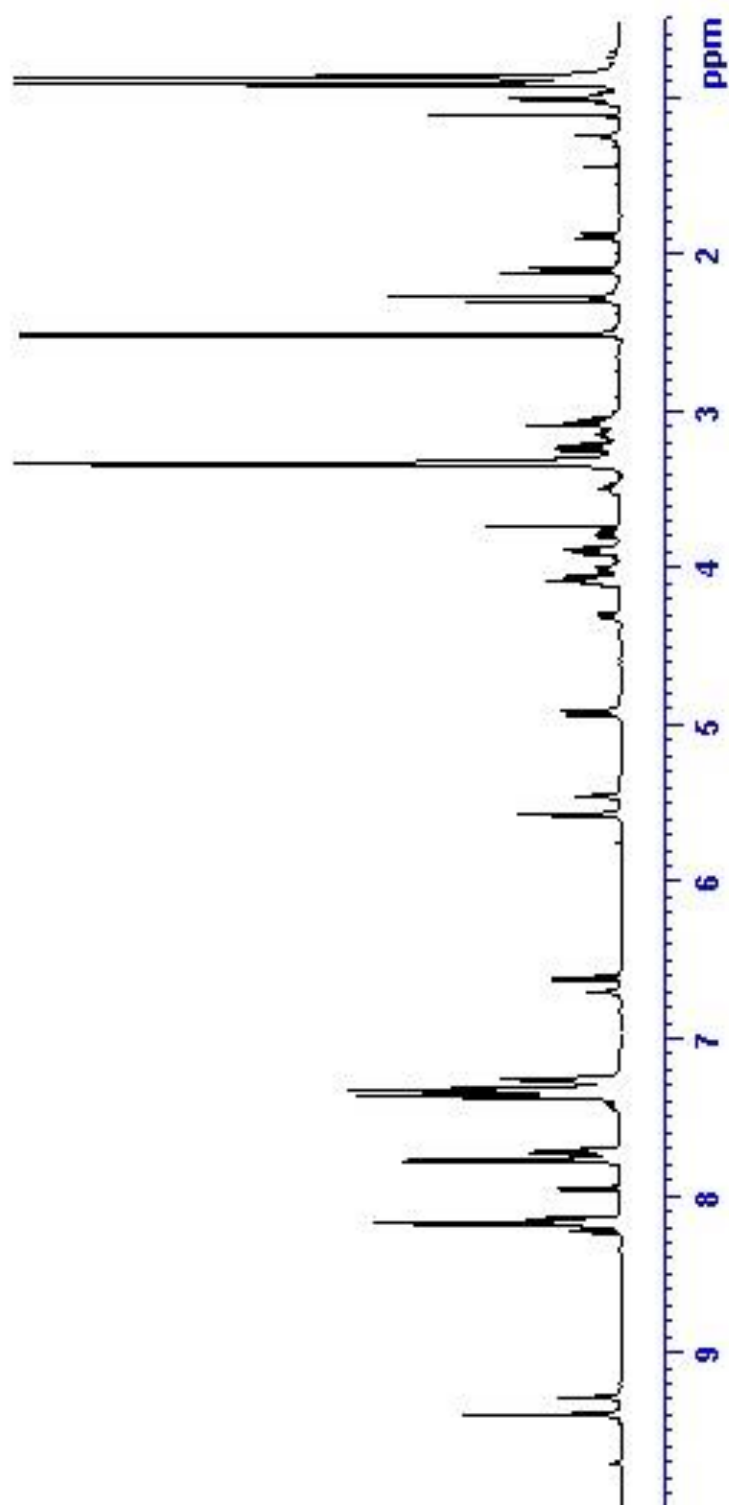
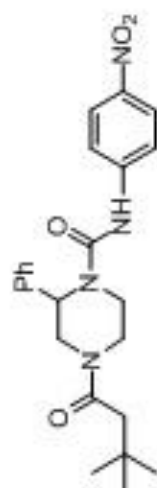
Toth K, Spencer JF, Dhar D, Sagartz JE, Buller RM, Painter GR et al. Hexadecyloxypropyl-cidofovir, CMX001, prevents adenovirus-induced mortality in a permissive, immunosuppressed animal model. Proc Natl Acad Sci USA. 2008; 105: 7293-7297.

Verdeguer A, de Heredia CD, González M, Martínez AM, Fernández-Navarro JM, Pérez-Hurtado JM et al. Observational prospective study of viral infections in children undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation: a 3-year GETMON experience. Bone Marrow Transpl. 2011; 46: 119-124.

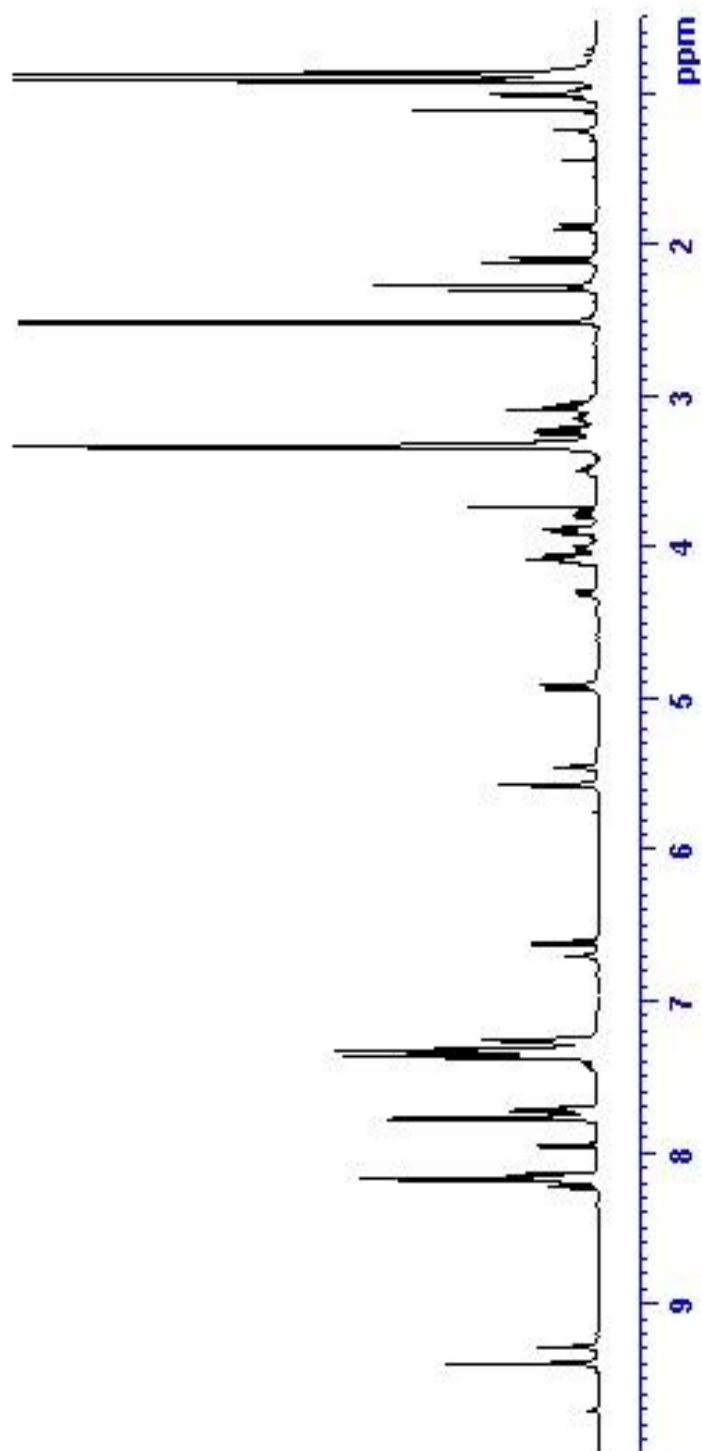
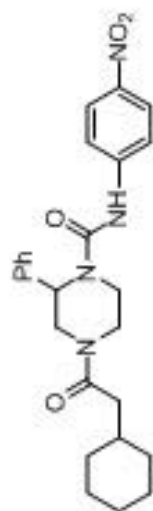
Waye MMY, Sing CW. Anti-Viral Drugs for Human Adenoviruses. Pharmaceuticals. 2010; 3: 3343-3354.

Wold WS, Toth K, (2015) New drug on the horizon for treating adenovirus, Expert Opin Pharmacother. 2015; 16 (14): 2095-2099.

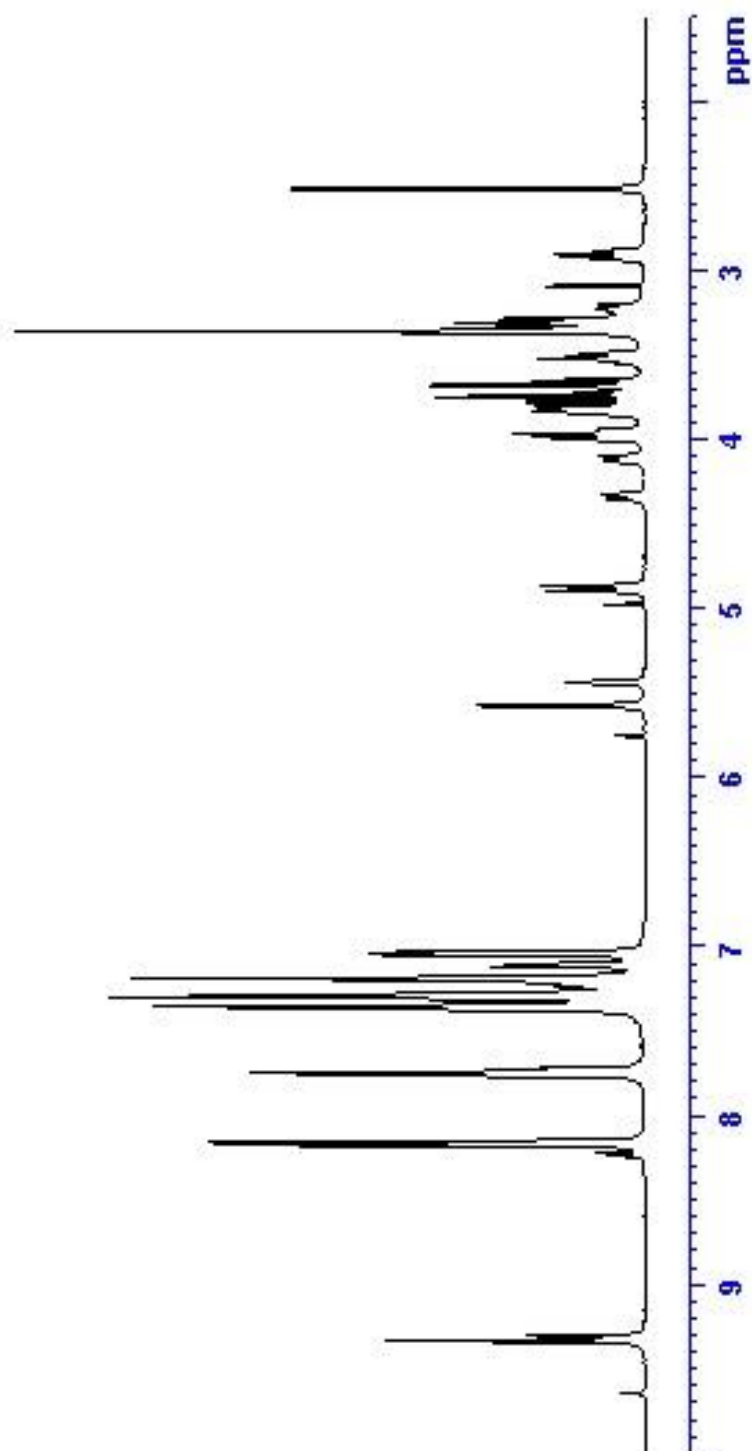
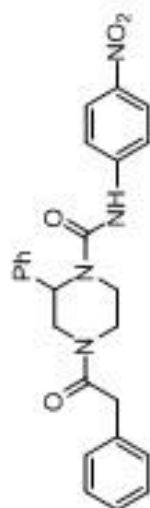
ANEXOS



Espectro 1. ^1H RMN de 4-(3,3-Dimetilbutanil)-2-fenil-1-[(4-nitrofenil)aminocarbonil]piperazina (19)



Espectro 2. ¹HMRN de 4-(2-(2-Ciclohexilacetil)-2-fenil-1-[(4-nitrofenil)aminocarbonil]piperazina (22)



Espectro ^3H RMN de 2-Fenil-4-(2-fenilacetil)-1-[(4-nitrofenil)aminocarbonil]piperazina (24)